

СПОСОБ И КРИТЕРИЙ КОНТРОЛЯ ИНЕРТНОСТИ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ СИСТЕМ

И.Г.Зенкевич, Е.Д.Макаров, А.А.Макаров, И.О.Климова
НИИ Химии Санкт-Петербургского государственного университета;
198504 Санкт-Петербург, Университетский пр., 26
izenkevich@mail15.com

Поступила в редакцию 19 марта 2006 г.

Обсуждается актуальная необходимость контроля инертности газохроматографических систем с использованием тест-смесей при работе, как с капиллярными, так и с насадочными колонками. В отличие от известных рекомендаций, состав таких смесей предложено упростить до минимально возможного числа компонентов (три). В то же время, для получения более объективных данных о сорбции полярных компонентов вместо использования единичных образцов рекомендовано проводить анализ нескольких растворов одного и того же состава, отличающихся абсолютными концентрациями компонентов. Алгоритм интерпретации результатов включает оценку степени подобия результатов, полученных методом внутренней нормализации для каждого из образцов.

Зенкевич Игорь Георгиевич – профессор, доктор химических наук, зав. лабораторией газовой хроматографии НИИ Химии СПбГУ.

Область научных интересов: хроматографические методы анализа, идентификация неизвестных веществ.

Автор около 500 публикаций.

Макаров Евгений Дементьевич – кандидат химических наук, ассистент химического факультета СПбГУ.

Область научных интересов: подготовка проб для хроматографического анализа, микротвердофазная экстракция, новые варианты количественного анализа.

Автор 19 публикаций.

Макаров Андрей Александрович – кандидат химических наук, ст. преподаватель химического факультета СПбГУ.

Область научных интересов: газовая хроматография, оптимизация разделения, модификация хроматографических фаз.

Автор 20 публикаций.

Климова Ирина Олеговна – инженер НИИ Химии СПбГУ.

Область научных интересов: высокоэффективная жидкостная хроматография, определение следов, новые варианты количественного анализа.

Автор 8 публикаций.

Введение

Одним из основных предназначений хроматографических методов анализа является количественное определение компонентов анализируемых образцов. Результаты определений должны соответствовать критериям точности (правильности и прецизионности), что регламентируется нормативными документами на уровне ГОСТов [1].

Для достижения приемлемой точности измерений, используемые для решения задачи хроматографические системы должны отвечать ряду требований. К числу важнейших из них следует отнести работу в линейных диапазонах применяемых детекторов, поскольку это необходимо для пропорциональности параметров хроматографических пиков (P , площади, реже высоты) количеству вещества в хроматографических зонах (m) или, при соответствующей градуировке, массе (M) или концентрации (C) веществ в анализируемых образцах:

$$m = k P \text{ или } M = k' P \text{ или } C = k'' P. \quad (1)$$

На этих соотношениях основаны все известные методы количественного хроматографического анализа [2-4]. Дополнительные условия включают оценку пределов обнаружения (минимально определяемых количеств), что важно при анализе следов, стабильности показаний, селективности (при использовании элемент-специфических детекторов) и такого сложно формализуемого понятия как инертность хроматографичес-

ких систем. Последнее в наибольшей степени относится к газохроматографическому оборудованию, обсуждаемому в настоящей работе.

Оценки стабильности и пределов обнаружения считаются стандартными операциями поверки хроматографических приборов, что нельзя сказать про контроль инертности. Нельзя не подчеркнуть также некую парадоксальность ситуации, связанную с тем, что все перечисленные выше термины не включены в число официально признанных определений в хроматографии [5]. В связи с этим можно заметить, например, что неоднозначность такого понятия как селективность обусловила необходимость публикации [6], специально посвященной обсуждению того, что абстрактной селективности не существует. Эту характеристику всегда следует относить к конкретным соединениям, которые во всех случаях должны быть указаны. Еще в большей степени неопределенность присуща такой важной характеристике, как инертность хроматографических систем. Несмотря на попытки формализации этого критерия, до настоящего времени никаких пригодных для практического использования рекомендаций не предложено. Получившие наибольшую известность для характеристики адсорбционной активности капиллярных колонок тест-смеси (Grob test mixtures [7-9]) часто предполагают визуальную оценку хроматограмм единичных образцов фактически лишь на качественном уровне.

Тем не менее, решение этой задачи представляется безусловно необходимым для того, чтобы отчетливо представлять, какие именно задачи количественного хроматографического анализа и какими способами целесообразно или нецелесообразно решать с использованием тех или иных приборов, особенно устаревших моделей, что актуально для многих контрольных лабораторий и учебных заведений РФ.

Учитывая изложенное, настоящая работа посвящена модификации способа и критерия контроля инертности газохроматографических систем с использованием минимального набора тест-образцов, легко применимых для любых приборов с различными колонками в любых условиях анализа.

Приготовление тест-образцов для контроля инертности хроматографических систем (экспериментальная часть)

В отличие от ранее известных рекомендаций, предполагающих использование фиксированных наборов некоторого числа тест-веществ (различные варианты рассмотрены в монографии [10]), предлагаемый принцип контроля инертности хроматографических систем жестко не связан с какими-либо конкретными веществами. Наборы компонентов, используемых для приготовления тест-образцов, могут быть изменены в зависимости от доступности веществ и характера конкретных задач, решаемых в той или иной лаборатории. К числу общих правил следует отнести минимальное количество компонентов в таких образцах (три) и их химическую природу. Один из них (условное обозначение NP) должен обладать минимальной полярностью, т.е. относиться к ряду алканов. В качестве второго целесообразно выбрать полярное соединение, не имеющее активных атомов водорода (P), тогда как третье должно представлять собой полярное соединение, имеющее активные атомы водорода (PH) (предпочтительнее – в составе гидроксильных групп). Разности их индексов удерживания (ИУ) должны быть достаточно большими, что позволит использовать такие смеси при работе не только с капиллярными, но и с насадочными колонками. При этом, для более отчетливого выявления возможных эффектов сорбции, компоненты должны быть не слишком низкокипящими, поскольку для относительно летучих веществ такие эффекты выражены в меньшей степени. С учетом этих требований три компонента, использованные в настоящей работе, представляют собой *n*-тридекан (NP), нитробензол (P) и бутилцеллозольв (PH) с температурами кипения в интервале 170-235 °С. Некоторые важнейшие свойства этих соединений, перечисленных в порядке возрастания их газохроматографических индексов удерживания (RI) на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах, указанные вместе с их межлабораторными стандартными отклонениями (s_{RI}), приведены ниже:

Компонент	Условное обозначение	Мол. масса	Мол. формула	$T_{кип}, ^\circ C$	d_4^{20}	$RI \pm s_{RI}$
Бутилцеллозольв	PH	118	$C_6H_{14}O_2$	170	0,902	900 ± 14
Нитробензол	P	123	$C_6H_5NO_2$	211	1,204	1062 ± 11
<i>n</i> -Тридекан	NP	184	$C_{13}H_{26}$	235,5	0,756	1300

Для приготовления тест-образца I с концентрациями компонентов 58-92 мг/мл по 150 мкл

каждого из перечисленных веществ растворяли в 1,5 мл этанола (для пересчета объемных кон-

концентраций в массо-объемные использовали справочные значения плотностей). Далее к 0,5 мл полученного раствора добавляли 4,5 мл этанола, что дает тест-образец II (разбавление 1:10). Таким же образом из образца II готовили образец III (разбавление 1:100). Концентрации компонентов в образце III (0,58-0,92 мг/мл) находятся на уровне концентраций компонентов в ранее рекомендованных [7-9] тест-смесях (Grob test mixtures, 0,28-0,53 мг/мл), однако летучий хлористый метилен ($T_{кип} 40^\circ\text{C}$) заменен менее летучим этанолом.

Одинаковые количества образцов I-III дозировали в различные хроматографы с пламенно-ионизационными детекторами, различными колонками и различными системами обработки данных, перечисленные ниже. Для оценки воспроизводимости относительных площадей пиков методом внутренней нормализации достаточно трехкратных измерений для каждого из них.

А. Цвет-500М (1993 г.); стеклянная насадочная колонка 3 м · 2 мм с 5 % OV-225 на Хроматоне N; режим программирования температуры от 80 до 190 °C со скоростью 10 град/мин; доза 0,1 мкл, температура детектора 180 °C, шкала электрометра 10^9 Ом; система обработки данных ПО "МультиХром" (версия 1.52).

Б. Цвет-500М (1995 г.); стеклянная насадочная колонка 3 м · 2 мм с 5 % SE-30 на Инертоне AW; режим программирования температуры от 65 до 200 °C со скоростью 6 град/мин; доза 0,4 мкл, температура детектора 175 °C, шкала электрометра 10^8 - 10^9 Ом; система обработки данных ПО "МультиХром" (версия 1.7).

В. Цвет-500М (1992 г.); стеклянная насадочная колонка 1 м · 2 мм с 5 % SE-30 на Хроматоне N-AW-DMCS; режим программирования температуры от 80 (3 мин) до 170 °C со скоростью 10 град/мин; доза 0,02 мкл, температура детектора 180 °C, шкала электрометра 10^{10} Ом; система обработки данных ПО "МультиХром" (версия 1.52).

Г. Цвет-500 (1990 г.); стеклянная насадочная колонка 2 м · 4 мм с 5 % SE-30 на Инертоне AW; изотермический режим (120 °C); доза 0,2 мкл, установленная температура детектора 220 °C, шкала электрометра 10^9 Ом; система обработки данных – интегратор CI-105 (Чехия).

Д. Цвет-100 (1973 г.); стеклянная насадочная колонка 3 м · 2 мм с 10 % SE-30 на Хроматоне N; режим программирования температуры от 50 до 180 °C со скоростью 8 град/мин; доза 1 мкл, нагрева детектора нет, шкала электрометра $20 \cdot 10^{-10}$ А; система обработки данных – интегратор TR 2213 (Япония).

Е. Цвет-100 (1973 г.); кварцевая капиллярная колонка 25 м · 0,32 мм Chrompack CP Sil 13 CB (толщина слоя неподвижной фазы 0,1 мкм); режим программирования температуры от 65 до 200 °C со скоростью 6 град/мин; доза 0,2 мкл, деление потока 1:10, нагрева детектора нет, шкала электрометра 10^8 - 10^{10} Ом; система обработки данных ПО "МультиХром" (версия 1.7).

Ж. Биохром-1 (1980 г.); кварцевая капиллярная колонка 25 м · 0,20 мм с OV-101 (толщина слоя неподвижной фазы 0,1 мкм); режим программирования температуры от 60 до 200 °C со скоростью 6 град/мин; доза 1 мкл, деление потока 1:30, температура детектора 250 °C, шкала электрометра $10 \cdot 10^{-12}$ А; система обработки данных – интегратор TR 2213 (Япония).

Контроль инертности хроматографических систем (результаты и их обсуждение)

Как отмечено во введении, наиболее известными тест-смесями для характеристики капиллярных хроматографических колонок являются Grob test mixtures (далее использован английский вариант их названия), предложенные более 30 лет назад [7-9]. Краткие сведения об этих смесях можно найти в монографии [10] и справочнике [11], а современные примеры их применения достаточно подробно представлены в Internet. Такие смеси обычно содержат около десяти компонентов (известны вариации их состава), которые перечислены в табл. 1 в порядке их хроматографического элюирования на колонках со стандартными неполярными полидиметилсилоксановыми неподвижными фазами. В их состав входят неполярные *n*-алканы (*n*-декан и *n*-ундекан, иногда заменяемый *n*-додеканом; реже набор *n*-алканов увеличивают до C_{10} - C_{18}), несколько метиловых эфиров алканкарбоновых кислот (обычно кислот C_{10} - C_{12} , реже – до метилпентадеканоата) в качестве слабополярных компонентов, не имеющих активных атомов водорода, нейтральные компоненты с активными атомами водорода (1-октанол и 2,3-бутандиол), "кислые" компоненты (2,6-диметилфенол и 2-этилгексановая кислота), а также компоненты с основными свойствами (2,6-диэтиланилин и дициклогексилламин). Реже в состав таких смесей включают альдегид (нонаналь; при использовании неполярных фаз может перекрываться с 2,6-диметилфенолом) и нафталин (индекс удерживания 1164 ± 13). Небезынтересно отметить, что по данным монографии [10] подобный состав тест-смесей задолго до работ [7-9] был предложен российскими авторами [12].

Таблица 1

Компоненты Grob test mixtures в порядке их хроматографического элюирования на колонках со стандартными неполярными полидиметилсилоксановыми неподвижными фазами

Компонент	Условное обозначение	RI \pm s _{RI} *	Концентрация, мг/мл
(-)-2,3-Бутандиол	D	824 \pm 32	0,53
n-Декан	C10	1000	0,28
1-Октанол	ol	1066 \pm 5	0,36
Нонаналь (редко)	al	1086 \pm 5	0,40
2,6-Диметилфенол	P	1088 \pm 9	0,32
n-Ундекан	C11	1100	0,29
2-Этилгексановая кислота	S	1123 \pm 22	0,38
2,6-Диметиланилин	A	1143 \pm 11	0,32
Метилдеcanoат	E10	1307 \pm 3	0,42
Дициклогексиламин	am	1398 \pm 8	0,31
Метилундеcanoат	E11	1408 \pm 3	0,42
Метилдодеcanoат	E12	1507 \pm 4	0,41

*) Статистически обработанные межлабораторные данные по индексам удерживания.

При детальной интерпретации хроматограмм таких тест-смесей, алканы и метилалканоаты используют для оценки эффективности капиллярных колонок (расчета числа теоретических тарелок), по сигналу 1-октанола (ol) предложено оценивать влияние адсорбции за счет остаточных силанольных групп, а нонаналь (al) – адсорбцию альдегидов, не связанную с влиянием водородных связей. Ключевыми в оценке инертности (точнее – кислотных или основных свойств поверхности) хроматографических колонок являются отношения площадей (высот) пиков слабого основания и слабой кислоты (A/P) и более сильных основания и кислоты (am/S) [13]. Однако, если такая детальная интерпретация и была предусмотрена при разработке тест-смесей, то в итоге их использование фактически свелось к визуальной оценке присутствия на хроматограммах пиков всех входящих в их состав компонентов. Главной проблемой представляется то, что отношения параметров пиков на единичных хроматограммах можно сравнивать только с заданным составом тест-смеси. Концентрации компонентов таких тест-смесей (раствор в хлористом метиле) выбраны приблизительно равными (0,28-0,53 мг/мл).

Суть предложения авторов настоящей работы состоит в упрощении состава подобных тест-смесей минимум до трех компонентов: неполярного (NP), полярного без активных атомов водорода (P) и полярного с активными атомами водорода (PH). Такое ограничение химической природы составляющих тест-смесей не является принципиально новым, так как предложения включать в их состав только спирты и алканы были известны и ранее [14-16]. Однако при этом такие образцы

должны существовать в виде нескольких растворов с разными абсолютными концентрациями компонентов (предлагается использовать серию разбавлений 1:1, 1:10 и 1:100; при необходимости этот ряд может быть продолжен), поскольку сорбционные эффекты хроматографических систем должны проявляться при минимальных содержаниях компонентов и обычно мало заметны для концентрированных растворов. Именно сравнение результатов для нескольких тест-образцов позволяет выявить тот уровень концентраций компонентов, при котором начинает сказываться отсутствие инертности хроматографических систем.

Следующее отличие от ранее известных рекомендаций состоит в обязательной количественной обработке результатов. При контроле инертности хроматографических систем, очевидно, не нужно оценивать воспроизводимость абсолютных площадей хроматографических пиков. Достаточно ограничиться оценками воспроизводимости относительных площадей пиков, рассчитываемых внутренней нормализацией:

$$S_i^{norm} = S_i / \sum S_i \quad (2)$$

В результате для каждого из тест-образцов, отличающихся абсолютными концентрациями компонентов при постоянстве их отношений, получаем набор значений S_i^{norm} с соответствующими стандартными отклонениями, т.е. $S_i^{norm} \pm s_{Si}$. Теоретически, если бы хроматографические системы обладали полной инертностью, все такие наборы значений S_i^{norm} должны были бы быть одинаковыми (близкими), но, в действительности, из-за неидеальности таких систем, они статистически значимо отличаются. При переходе к

более разбавленным растворам в первую очередь подвержены дискриминации относительные площади пиков полярных компонентов, имеющих активные атомы водорода (PH). Причиной этого является их сорбция элементами газовых

линий, что особенно проявляется при использовании приборов устаревших моделей.

Результаты анализа тест-образцов I-III на семи приборах разного времени выпуска (1973-1995 гг.) представлены в табл. 2.

Таблица 2

Сравнение результатов анализа тест-образцов I-III на разных хроматографах

Компонент	Относительные площади пиков, $S_i^{\text{отн}} \pm s_{Si}$		
	I	II	III
А. Хроматограф Цвет-500М (1993 г.), насадочная колонка			
(NP)*	26,3 ± 0,2	24,5 ± 0,2	24,0 ± 0,1
(P)	32,7 ± 0,7	35,3 ± 0,1	35,7 ± 0,1
(PH)	40,9 ± 1,0	40,2 ± 0,2	40,3 ± 0,1
Критерий соответствия: $D(I,II) = 3,2 > 1,3$; $D(II,III) = 0,6 > 0,3$; $D(I,III) = 3,8 \gg 1,2$			
Б. Хроматограф Цвет-500М (1995 г.), насадочная колонка			
(PH)	23,3 ± 0,7	20,1 ± 0,4	14,0 ± 0,4
(P)	40,6 ± 0,1	40,9 ± 0,2	34,8 ± 2,0
(NP)	36,1 ± 0,7	39,0 ± 0,4	51,1 ± 1,6
Критерий соответствия: $D(I,II) = 4,3 > 1,2$; $D(II,III) = 14,9 \gg 2,7$; $D(I,III) = 18,6 \gg 2,8$			
В. Хроматограф Цвет-500М (1992 г.), насадочная колонка			
(PH)	24,9 ± 0,3	15,9 ± 0,6	—**
(P)	41,2 ± 0,2	45,7 ± 0,5	—
(NP)	34,0 ± 0,6	38,4 ± 1,0	—
Критерий соответствия: $D(I,II) = 11,0 > 1,4$			
Г. Хроматограф Цвет-500 (1990 г.), насадочная колонка			
(PH)	33,7 ± 1,1	30,4 ± 4,0	24,2 ± 1,2
(P)	43,1 ± 1,4	41,8 ± 0,8	38,8 ± 2,1
(NP)	23,3 ± 2,5	27,8 ± 4,0	37,1 ± 3,1
Критерий соответствия: $D(I,II) = 5,7 < 6,5^{***}$; $D(II,III) = 11,6 > 6,9$; $D(I,III) = 17,3 > 5,0$			
Д. Хроматограф Цвет-100 (1973 г.), насадочная колонка			
(PH)	27,9 ± 0,9	23,4 ± 1,1	0****
(P)	38,6 ± 1,2	37,5 ± 1,2	26,9 ± 4,1
(NP)	34,1 ± 0,6	39,1 ± 2,2	73,1 ± 4,1
Критерий соответствия: $D(I,II) = 6,4 > 3,2$; $D(II,III) = 42,6 \gg 6,4$; $D(I,III) = 49,0 \gg 6,0$			
Е. Хроматограф Цвет-100 (1973 г.), капиллярная колонка			
(PH)	30,3 ± 0,5	24,6 ± 0,1	17,2 ± 2,0
(P)	39,9 ± 0,7	38,6 ± 1,6	39,3 ± 1,2
(NP)	29,8 ± 1,2	36,8 ± 1,5	43,5 ± 1,2
Критерий соответствия: $D(I,II) = 9,1 > 2,6$; $D(II,III) = 10,0 > 3,4$; $D(I,III) = 26,9 \gg 3,0$			
Ж. Хроматограф Биохром-1 (1980 г.), капиллярная колонка			
(PH)	30,0 ± 0,4****	27,6 ± 0,1	0****
(P)	39,8 ± 0,6****	39,4 ± 0,6	13,4 ± 7,5
(NP)	30,2 ± 0,3****	33,0 ± 0,8	86,6 ± 7,5
Критерий соответствия: $D(I,II) = 3,7 > 1,3$; $D(II,III) = 65,7 \gg 10,6$; $D(I,III) = 69,1 \gg 10,6$			

*) обратный порядок элюирования компонентов обусловлен использованием колонки с полярной неподвижной фазой OV-225;

**) При дозе 0,02 мкл сигналы не удалось зарегистрировать из-за высокого уровня шумов;

***) Единственный случай невыполнения условия (7) выделен жирным шрифтом;

****) Перегрузка капиллярной колонки;

*****) Соответствует "размытым" хроматографическим пикам, не обрабатываемым интегратором.

В их число входят хроматографы как с насадочными, так и с капиллярными колонками. Относительные площади пиков компонента (P) при переходе от образца I к образцу II и, далее, к III, в большинстве случаев убывают. Соответственно этому возрастают величины $S_i^{орт}$ неполярного n-тридекана. Сравнение нескольких наборов относительных площадей хроматографических пиков, безусловно, является более наглядным по сравнению с интерпретацией данных для их единичного набора, как это было рекомендовано ранее (в Grob test mixtures). Однако и в этом случае для "интегральной" оценки наблюдаемых искажений, обусловленных отсутствием инертности хроматографических систем, необходим критерий сравнения совокупностей значений $S_i^{орт}$ между собой.

Из известных математических способов сравнения наборов нескольких (N) чисел, которые можно рассматривать как координаты точки в N-мерном пространстве, заслуживают упоминания два. Первый из них использован в алгоритме, предложенном компанией Finnigan [17] для хромато-масс-спектрометрической идентификации (сравнения экспериментально полученных масс-спектров со спектрами баз данных) и оказавшимся настолько удачным, что он широко используется до настоящего времени. Степень подобия двух наборов чисел (в рассматриваемом случае – относительных площадей S_i^x и S_i^y) характеризуют квадратом косинуса угла (Θ) между векторами, задаваемыми началом координат и соответствующими точками в N-мерном пространстве:

$$\cos^2\Theta = (\sum S_i^x S_i^y)^2 / (\sum S_i^x)^2 (\sum S_i^y)^2. \quad (3)$$

Если принять (как в случае сопоставления масс-спектров) в качестве допустимого для принятия гипотезы о совпадении двух наборов данных граничное значение критерия $\cos^2\Theta$ равное 0,9, то, например, для режима Д (Табл. 2) получаем: $\cos^2\Theta(I, II) = 0,988$, $\cos^2\Theta(II, III) = 0,709$ и $\cos^2\Theta(I, III) = 0,606$. Такие оценки подтверждают, что данные для тест-образца III абсолютно не согласуются с результатами анализа образцов I и II, степень совпадения которых в соответствии с этим критерием следует классифицировать как приемлемую. Однако условие (3) относится к относительно "мягким" критериям выявления несоответствия наборов данных. В рассматриваемом же случае предпочтительнее использовать более "жесткие" критерии, учитывающие, к тому же, стандартные отклонения относительных площадей хроматографических пиков (случай-

ную составляющую погрешностей измерений).

Этим условиям лучше всего удовлетворяет второй возможный алгоритм сравнения наборов N чисел – так называемая Евклидова метрика – расстояние между соответствующими точками в N-мерном пространстве:

$$D = [\sum (S_i^x - S_i^y)^2]^{1/2}. \quad (4)$$

Для предлагаемых трехкомпонентных тест-образцов $N = 3$. Ранее подобный критерий был эффективно применен для сравнения наборов констант Мак-Рейнольдса различных индивидуальных фаз ($N = 5$) и их бинарных комбинаций при характеристике хроматографических свойств [18].

Дифференцирование формулы (4) дает выражение для оценки случайной составляющей значений D в зависимости от случайных составляющих погрешностей определения всех значений S_i^x и S_i^y :

$$\Delta D = [(\sum \Delta S_i^x)^2 + (\sum \Delta S_i^y)^2]^{1/2} / D. \quad (5)$$

С учетом этого выражения, критерием соответствия результатов анализа двух тест-образцов (и, следовательно, принятия гипотезы об инертности хроматографической системы на данном уровне концентраций компонентов таких образцов) оказывается следующее неравенство:

$$D < \Delta D \quad (6)$$

или, после несложных преобразований,

$$\sum (S_i^x - S_i^y)^2 < [(\sum \Delta S_i^x)^2 + (\sum \Delta S_i^y)^2]^{1/2}. \quad (7)$$

Обратное неравенство $D > \Delta D$ является, таким образом, критерием отсутствия инертности.

Средние стандартные отклонения относительных площадей пиков на разных приборах для образцов I-III составляют $\pm 0,8$, $\pm 1,0$ и $\pm 2,4$ %, соответственно. Закономерное возрастание погрешностей определения $S_i^{орт}$ при уменьшении концентраций компонентов также связано с проявлением эффектов сорбции полярных веществ. Учитывая указанные средние значения s_{Si} , можно оценить допустимые значения критерия D, позволяющие считать хроматографические системы инертными, а именно $D(I, II) < 3,1$, $D(II, III) < 4,5$ и $D(I, III) < 4,4$ (в среднем около 4 %).

Данные табл. 2 весьма наглядны и позволяют выявить степень искажения результатов анализа смесей, содержащих полярные компоненты, однако их не следует считать окончательной оценкой инертности хроматографических систем. Это обусловлено тем, что абсолютные дозируемые количества компонентов тест-образцов

(m) на разных приборах существенно отличаются. Например, для компонента РН при использовании образца I они варьируют от 1,4 до 69 мкг в пробе, т.е. в 40 раз. При этом излишняя стандартизация концентраций растворов и дозируемых количеств нежелательна, так как может сделать предлагаемый способ неудобным на практике. Поэтому полученные результаты целесообразно рассматривать в виде зависимостей $m(D)$ с целью приблизительной оценки количества полярного компонента, при котором значения параметра D не превышают предельного значения 4. Для этого можно использовать простейшее соотношение для линейной экстраполяции (интерполяции):

$$m = D(m_{II} - m_{III})[D(I, II) - D(I, III)] + [m_{III}D(I, III) - m_{II}D(I, II)] / [D(I, II) - D(I, III)] \quad (8)$$

Учитывая, что отношения концентраций компонентов в образцах I-III кратны 10, соотношение (8) предпочтительнее использовать в логарифмической шкале ($\lg m$ вместо m). Полученные оценки допустимых величин $m_{мин}$ приведены в табл. 3.

Таблица 3

Оценка минимальных количеств полярного компонента (Р) в пробах, при которых можно пренебречь неидеальностью хроматографических систем

Режим анализа	Абсолютное количество полярного компонента в пробе образца I, $m_{мин}$, мкг	Оценка $m_{мин}$ ($D = 4$) по зависимости $\lg m = f(D)$, мкг
А	6,9	0,03
Б	27,6	2,9
В	1,4	-*
Г	13,9	2,6
Д	69,4	7,9
Е	1,4	0,17**
Ж	2,3	0,22**

*) Оценка невозможна (нет данных для образца III);

**) С учетом деления потока при дозировании в капиллярные колонки.

Оценивая полученные результаты, следует заметить, что говорить об отсутствии инертности хроматографических систем по отношению к отдельным компонентам анализируемых образцов безотносительно указания их концентраций (точнее – абсолютных количеств этих компонентов в пробах) нельзя. Визуальные эффекты искажения результатов на разных приборах могут быть весьма заметными (от незначительного уменьшения относительных площадей пиков до полного исчезновения сигналов полярных ком-

понентов на хроматограммах; см. режимы анализа Д и Ж). Однако приведение всех данных к единой шкале $m_{мин}$ показывает, что на характеризующих устаревших хроматографах отечественного производства эффекты сорбции полярных компонентов начинают заметно сказываться начиная с 2 – 3 мкг в пробе для насадочных колонок и около 0,2 мкг – для капиллярных. Аномально высокое значение 7,9 мкг зарегистрировано для хроматографа Цвет-100 (1973 г. выпуска, режим Д) и обусловлено его конструктивными особенностями. На этом приборе стеклянная насадочная колонка крепится в термостате на плате и соединена с испарителем и детектором достаточно протяженными газовыми линиями из нержавеющей стали. Главное же, что на нем не предусмотрен нагрев детектора. Эти два фактора и приводят к сорбции наиболее полярных компонентов анализируемых проб.

Можно полагать, что подобные эффекты будут наблюдаться даже для самых современных газовых хроматографов, но при существенно меньших значениях $m_{мин}$.

Отдельных комментариев заслуживает режим А, для которого выявлено минимальное значение $m_{мин} \approx 0,03$ мкг при использовании насадочной хроматографической колонки. Причиной столь существенных отличий следует считать использование колонки с полярной неподвижной фазой OV-225. Это привело к изменению порядка элюирования компонентов ($NP < P < РН$ вместо $РН < P < NP$), вследствие чего наиболее полярный компонент (бутилцеллозольв) оказался выходящим из колонки при максимальной по сравнению с другими соединениями температуре, что обусловило подавление эффектов сорбции. Таким образом, понятие "инертность" следует относить не столько к конкретному прибору, сколько к выбранным условиям разделения в целом (включая температурный режим и полярность используемой в колонке неподвижной фазы).

Такой вывод заставляет пересмотреть некоторые известные особенности газохроматографического анализа. Так, в работах [19,20] было отмечено, что результаты обработки хроматограмм (метод внутренней нормализации) одних и тех же образцов, анализируемых в изотермических условиях и режимах программирования температуры, статистически значимо отличаются друг от друга. Поскольку этот эффект наблюдается и для смесей, содержащих только неполярные компоненты, то его объяснение было связано с постоянством расхода газа-носителя через колонку при изменении ее температуры. Это может

влиять на геометрические размеры пламени в ионизационно-пламенных детекторах и, следовательно, на их абсолютную чувствительность. Результаты настоящей работы показывают, что выводы [19, 20] должны быть уточнены с учетом влияния эффектов сорбции, т.е. инертности хроматографических систем, особенно при анализе смесей веществ различной химической природы.

Можно полагать, что большинству специалистов в газовой хроматографии подобные эффекты знакомы, так что задача настоящей работы состоит, прежде всего, в формализации критериев оценки инертности хроматографических систем. Кроме того, нельзя не отметить, что одним из преимуществ высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) следует считать то, что в этом методе подобное приборное влияние проявляется в существенно меньшей степени.

Положительным итогом результатов, представленных в Табл. 3, является то, что для любых приборов (даже устаревших моделей) существуют области концентраций определяемых соединений в образцах, при которых отсутствием достаточной инертности хроматографических систем можно пренебречь. Верхние пределы анализируемых количеств ограничены перегрузкой хроматографических колонок (особенно капиллярных) и возможным выходом за пределы линейности детектора, что также приводит к искажениям получаемых результатов. С учетом этого, более корректно говорить не о границах, а о диапазонах инертности. К сожалению, на устаревших приборах такие диапазоны нередко оказываются чрезмерно узкими. Например, для хроматографа Биохром-1 (1980 г. выпуска, режим Ж) дозирование 1 мкл тест-образца I приводит к перегрузке колонки, а образца III – к выходу за пределы диапазона инертности. Таким образом, этот устаревший прибор фактически пригоден для анализа проб с вариациями содержания определяемых компонентов в пределах не более одного порядка.

Указанные особенности хроматографического оборудования следует иметь в виду при выборе методов количественного анализа тех или иных

образцов. Безусловно, метод абсолютной градуировки, основанный на выявлении зависимостей $m(P)$, позволяет учесть эффекты сорбции, но это проявляется в нелинейности таких зависимостей в области малых количеств определяемых веществ и высоких пределах их обнаружения. Если образцы содержат компоненты различной химической природы в заметно отличающихся количествах, то в области $m < m_{\text{мин}}$ нельзя использовать обработку результатов методом внутренней нормализации. Наиболее универсальным и точным в таких условиях оказывается метод стандартной добавки, поскольку при оптимальных величинах добавок содержание определяемых компонентов в образцах варьирует не более чем в 2-3 раза, так что даже сильно выраженные эффекты сорбции сказываются на результатах в незначительной степени.

В заключение следует отметить, что такая операция как контроль инертности хроматографических систем не может представлять исключительно теоретический интерес, а должна рассматриваться как рутинная процедура проверки используемых приборов (особенно устаревших моделей). При этом состав тест-смесей не следует считать раз и навсегда заданным; его можно варьировать в зависимости от химической природы определяемых соединений, соблюдая несколько простейших правил. Минимальное число компонентов тест-смеси должно быть не менее трех, один из которых должен быть неполярным алканом, а два других – полярными. Критерий инертности следует из сравнения результатов анализа нескольких (минимум трех) образцов, содержащих одни и те же компоненты в разных концентрациях. При этом количественной мерой инертности хроматографических систем являются как абсолютные количества полярных компонентов в пробах, так и диапазоны их вариаций, при которых результаты количественного анализа тест-образцов статистически значимо не отличаются от результатов анализа более концентрированных растворов.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 – ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Повторяемость.
2. Новак Й. Количественный анализ методом газовой хроматографии. Пер. с англ. М.: Мир, 1978. 180 с.
3. Количественный анализ хроматографическими методами. Ред. Э.Кэц. Пер. с англ. М.: Мир, 1990. 320 с.
4. Столяров Б.В., Савинов И.М., Витенберг А.Г. и др. Практическая газовая и жидкостная хроматография. СПб.: Изд. СПб ун-та. 2002. 610 с.
5. Хроматография. Основные понятия. Терминология. Сб. научно-нормативной терминологии. Вып. 114. М.: Комитет научной терминологии в обл. фундаментальных наук. Научн. совет по хроматографии РАН. 1997. 48 с.
6. Москвин Л.Н., Зенкевич И.Г., Карцова Л.А. // Журн.

- аналит. химии. 2004. Т. 59. № 7. С. 697.
7. Grob K., Grob G. // Chromatographia. 1971. V. 4. P.421.
 8. Grob K. Jr., Grob G., Grob K. // J. Chromatogr. 1978. V.156. P. 1.
 9. Grob K. Jr., Grob G., Grob K. // J. High Resolut. Chromatogr. & Chromatogr. Commun. 1978. V. 1. P. 149.
 10. Тесаржик К., Комарек К. Капиллярные колонки в газовой хроматографии. М.: Мир, 1987. 224 с.
 11. Пецев Н., Коцев Н. Справочник по газовой хроматографии. Пер. с болг. М.: Мир, 1987. 262 с.
 12. Жданов С.П., Калмановский В.И., Киселев А.В. и др. // Журн. физич. химии. 1962. Т. 36. С. 595.
 13. Pierce 1987 Handbook & General Catalog. P. 173. Performance Evaluation.
 14. Goretti G., Liberti A. // J. Chromatogr. 1978. V.161. P.89.
 15. Schieke J.D., Pretorius V. // J. Chromatogr. 1977. V.132. P. 217.
 16. Schomburg G., Husmann H., Weeke F. // Chromatographia. 1977. V.10. P.580.
 17. Sokolow S., Karnofsky J., Gustafson P. The Finnigan Library Search Program. Finnigan Application Rep. 1978. № 2. 45 p.
 18. Зенкевич И.Г., Макаров А.А. // Журн. аналит. химии. 2005. Т. 60. № 9. С. 752.
 19. Зенкевич И.Г., Ещенко А.Ю., Климова И.О. // Лаб. журнал. 2002. № 1(1). С. 26.
 20. Зенкевич И.Г., Ещенко А.Ю., Климова И.О. // Журн. аналит. химии. 2005. Т. 60. № 2. С. 137.

* * * * *

METHOD AND CRITERION FOR INERTNESS CONTROL OF CHROMATOGRAPHIC SYSTEMS

I.G.Zenkevich, E.D.Makarov, A.A.Makarov, I.O.Klimova

The necessity to control the inertness of gas chromatographs equipped with both capillary and packed columns using test-mixtures is discussed. In spite of previous recommendations, it is proposed to simplify the composition of these mixtures up to the minimal number of components (three). At the same time, instead of analyses the single samples, the comparison of results for few solutions of the same composition but different absolute concentrations of constituents is recommended. The algorithm of data interpretation includes evaluation the similarity of results obtained for every sample by normalization.
